

Соседова Л.М. ^{1,3}, Вокина В.А. ^{1,3}, Кондратьев В.В. ², Ермолович Е.В. ², Березин А.А. ²

ОЦЕНКА БИОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ КОНЦЕНТРАТА НАНОСТРУКТУР НА ОСНОВЕ ДИОКСИДА КРЕМНИЯ

¹ ФГБНУ «Восточно-Сибирский институт медико-экологических исследований» (665827, г. Ангарск, а/я 1170, Россия)

² ФГБОУ ВО «Иркутский национальный исследовательский технический университет» (664074, г. Иркутск, ул. Лермонтова, 83, Россия)

³ ФГБУН «Иркутский научный центр СО РАН» (664033, г. Иркутск, ул. Лермонтова, 134, Россия)

Концентрат наноструктур на основе диоксида кремния, получаемый из отходов производства металлического кремния, является перспективной добавкой для повышения прочности строительных материалов. Кремниевая пыль представляет собой конгломераты твёрдых частиц, имеющие размеры от субмикронных до нескольких десятков микрон со сложным химическим и фазовым составом, при этом наибольшую массовую долю составляет диоксид кремния (не менее 98 %). Концентрат содержит как отдельные наночастицы размером 1 мкм, так и агломераты от 1 до 45 мкм. Решающим в вопросе о целесообразности использования данного нанопродукта является биобезопасность людей, контактирующих с ним. Определение параметров острой токсичности, видовой и половой чувствительности проводили на аутбредных белых мышах и крысах обоего пола. Исследуемую субстанцию суспендировали в дистиллированной воде и вводили животным наноцпак внутрпжелудочно с помощью атравматического металлического зонда, дозируя путём изменения вводимого объёма, не превышавшего 1 мл для белых мышей и 2 мл для крыс. Проведено испытание предельной дозы в 2000 мг/кг массы тела в два этапа, по 3 особи на каждом этапе. Местное раздражающее действие концентрата наноструктур на основе диоксида кремния на кожу при однократном воздействии изучали на 8 белых крысах самцах и самках, массой 180–200 г. Установлено, что по параметру DL50 испытываемая субстанция при остром внутрпжелудочном пути поступления характеризуется как вещество, имеющее низкую опасность острой токсичности, и относится к V классу опасности (DL50 > 2000 мг/кг). Величины среднесмертельных доз (DL50) независимо от вида и пола животных определялись как >2000 мг/кг, что свидетельствовало об отсутствии различий в видовой и половой чувствительности животных. При однократном нанесении на кожные покровы отмечено слабо выраженное раздражающее действие, исчезающее через 16 часов после окончания воздействия.

Ключевые слова: диоксид кремния, наноструктуры, лабораторные животные, токсичность

ASSESSMENT OF BIOLOGICAL PROPERTIES OF CONCENTRATE OF NANOSTRUCTURES BASED ON SILICON DIOXIDE

Sosedova L.M. ^{1,3}, Vokina V.A. ^{1,3}, Kondratiev V.V. ², Yermolovich E.V. ², Berezin A.A. ²

¹ East-Siberian Institute of Medical and Ecological Research (665827, Angarsk, POB 1170, Russian Federation)

² Irkutsk National Research Technical University (664074, Irkutsk, ul. Lermontova, 83, Russian Federation)

³ Irkutsk Scientific Center SB RAS (664033, Irkutsk, ul. Lermontova, 134, Russian Federation)

Safety assessment of new nanostructured treatments and substances requires special attention from producers during synthesis and technological cycle and from the medical staff examining the persons contacting them. Toxicity studies should be conducted before the beginning of their use, in order not to allow producing of nanopreparations with detrimental effects on human health. In the current economic climate, use of wastes from the production of metal silicon is promising. The article deals with the safety problems resulting from contact with wastes from the production of metal silicon. Concentrate of nanostructures based on silicon dioxide contained separate 1 µm nanoparticles and agglomerates from 1 to 45 µm has been investigated. This concentrate is a perspective additive to increase sustainability properties of building materials. The objective of the research was to examine biological properties of siliceous dust administered to rats through various routes. Acute toxicity, species and sexual sensitivity after oral administration of the concentrate of nanostructures in mice and rats of both sexes, acute skin irritation from a single exposure were studied. The concentrate of nanostructures based on silicon dioxide can be classified in V category of hazard based on acute oral toxicity by classic toxicological methods (DL50 > 2000 mg/kg, no sexual and specific sensitivity). It produces slight irritating effect in acute dermal toxicity test that will disappear completely within 16 hours of exposure.

Key words: silicon dioxide, nanostructures, laboratory animals, toxicity

Наличие кремния в природе в огромных количествах стимулирует поиск дешёвых эффективных способов синтеза нанокремния и является в высшей степени актуальной задачей в свете его возможного использования в полупроводниковой технике, для производства приборов оптоэлектроники, для получения сплавов на нежелезной основе, легирования и раскисления стали и сплавов и т.д. Вместе с тем, весь-

ма перспективным в современных экономических условиях является использование отходов производства металлического кремния, из которых может быть получен продукт с содержанием SiO₂. В процессе газоочистки печей получается кремниевая пыль, представляющая собой ультрадисперсный материал, который в последующем возможно использовать во многих отраслях промышленности: при производ-

стве высокопрочных композитных легированных металлических сплавов, резино-технических изделий, красок, стекла, в качестве инертных наполнителей, а также керамики, битума и мастик, металлических сплавов и чугуна, для повышения прочностных свойств строительных материалов.

В предыдущих исследованиях установлено, что кремниевая пыль представляет собой конгломераты твёрдых частиц, имеющие размеры от субмикронных до нескольких десятков микрон со сложным химическим и фазовым составом, при этом наибольшую массовую долю составляет диоксид кремния (не менее 98 %). Гранулометрический состав пыли (после длительного хранения и процессов самокоагуляции) свидетельствует о преобладании в 63,5 % наночастиц с размерами менее 1 мкм, в 30 % встречаются мелкие агломераты размерностью не более 1 мкм, в остальных случаях определяются агломераты размером от 10 до 45 мкм [1, 2].

Использование в производстве наноразмерных продуктов предъявляет особые требования к безопасности для состояния здоровья контактирующих с ними [5]. При этом экономическая эффективность уступает место вопросам биобезопасности людей, что в конечном итоге будет являться решающим в вопросе о целесообразности использования данного нанопродукта.

В связи с вышеизложенным, **целью** настоящих исследований являлось изучение биологических свойств кремниевой пыли на лабораторных животных при различных путях введения.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Эксперименты проведены на 40 беспородных белых крысах и мышах. Экспериментальные животные содержались в виварии ФГБНУ ВСИМЭИ на стандартном рационе вивария. Группы животных подбирались в соответствии с методическими рекомендациями «Оценка безопасности наноматериалов», утверждёнными Приказом Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека № 280 от 12.10.2007 г. Работа с лабораторными животными осуществлялась согласно протоколу исследований, в соответствии с Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и иных целей (Страсбург, 1986), Женевской конвенцией о международных принципах биомедицинских исследований с использованием животных (1985) и Хельсинкской декларацией о гуманном отношении к животным (2000). Животные выводились из эксперимента методом декапитации в соответствии с «Правилами проведения работ с экспериментальными животными», утверждёнными Приказом МЗ СССР № 755 от 12.08.1977 г. Животные распределялись по 6 особей одного пола в группе методом рандомизации. В качестве критериев приемлемости рандомизации считали отсутствие внешних признаков заболеваний и гомогенность групп по массе тела ($\pm 20\%$).

Определение параметров острой токсичности, видовой и половой чувствительности проводили на аутбредных белых мышах и крысах обоего пола

массой соответственно 18–24 г и 180–200 г при внутрижелудочном введении концентрата наноструктур на основе диоксида кремния [3]. Исследуемую субстанцию суспендировали в дистиллированной воде и вводили животным натошак внутрижелудочно с помощью атравматичного металлического зонда, дозируя путём изменения вводимого объёма, не превышавшего 1 мл для белых мышей и 2 мл для крыс. Кормление животных осуществляли через 3 часа после введения вещества. Проведено испытание предельной дозы в 2000 мг/кг массы тела в два этапа, по 3 особи на каждом этапе. За состоянием животных наблюдали на протяжении 14 суток, оценивая общее состояние животных (внешний вид, состояние кожных покровов, наличие гиперсаливации, гибель), изменения в поведении.

Местное раздражающее действие концентрата наноструктур на основе диоксида кремния на кожу при однократном воздействии изучали на 8 белых крысах самцах и самках, массой 180–200 г. За один день до эксперимента тщательно выстригали шерсть на участке аппликации. В опыт брали животных с чистой здоровой кожей, без механических повреждений. Шерсть выстригали на симметричных участках по обе стороны от позвоночника, оставляя шёрстный покров между ними в 2 см. Участок аппликации составлял 4 × 4 см. Правый бок служил для аппликации испытуемой субстанции, левый бок для контроля. Субстанцию наносили на кожу в нативном виде, слегка смоченную дистиллированной водой из расчёта 20 мг/см². Нанесение вещества осуществляли открытым способом при температуре окружающей среды 19 °С. После нанесения вещества крыс помещали в индивидуальные домики, время экспозиции составляло 4 часа. По окончании экспозиции субстанцию смывали ватным тампоном, смоченным в мыльном растворе, кожу протирали досуха.

Реакцию кожи регистрировали сразу после окончания экспозиции, через 1 час и 16 часов после однократной аппликации, сравнивали с симметричным участком кожи крысы. Функциональные нарушения кожи оценивали по появлению различной степени эритемы, отёка, трещин, изъязвлений кожи [4]. Выраженность эритемы измеряли визуально, оценивали в баллах. Величину отёка определяли путём измерения толщины кожной складки (мм) при помощи микрометра типа МК-102 (Россия). Оценку степени эритемы и отёка суммировали для каждого животного, затем вычисляли среднюю оценку раздражающего эффекта для всех животных.

Статистический анализ результатов исследования проводился с использованием пакета прикладных программ Statistica 6.1 (StatSoft Inc., США) (лиц № АХХR004Е642326FA). На основании оценки нормальности распределения признаков (W-критерий Шапиро – Уилка) для сравнения двух независимых выборок был применён параметрический t-критерий. Различия считались статистически значимыми при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

При введении изучаемой субстанции в предельной дозе, картина отравления, независимо от вида

Таблица 1

Результаты исследования раздражающего действия концентрата наноструктур на основе диоксида кремния на кожу белых крыс

№ крысы	Срок обследования											
	После окончания экспозиции				Через 1 час после экспозиции				Через 16 часов после экспозиции			
	Толщина кожной складки, мм		Увеличение толщины кожной складки		Толщина кожной складки, мм		Увеличение толщины кожной складки		Толщина кожной складки, мм		Увеличение толщины кожной складки	
	контроль	опыт	мм	в баллах	контроль	опыт	мм	в баллах	контроль	опыт	мм	в баллах
1	1,51	1,64	0,13	1	1,53	1,66	0,13	1	1,50	1,53	0,03	1
2	1,60	1,67	0,07	1	1,61	1,70	0,09	1	1,58	1,61	0,03	1
3	1,41	1,54	0,13	1	1,45	1,57	0,12	1	1,47	1,53	0,06	1
4	1,56	1,60	0,04	1	1,56	1,68	0,12	1	1,52	1,57	0,05	1
5	1,20	1,28	0,08	1	1,23	1,30	0,07	1	1,25	1,28	0,03	1
6	1,41	1,50	0,09	1	1,42	1,54	0,12	1	1,48	1,56	0,08	1
7	1,27	1,30	0,03	1	1,27	1,33	0,06	1	1,26	1,31	0,05	1
8	1,28	1,36	0,08	1	1,25	1,40	0,15	1	1,22	1,24	0,02	1

животного, была сходной. В первые часы наблюдения после внутрижелудочного введения отмечалось незначительное снижение двигательной активности, вялость и снижение реакции на акустический раздражитель. Спустя сутки после введения субстанции данные изменения нивелировались и на протяжении оставшегося срока наблюдения внешних признаков отравления у животных не наблюдалось. Гибели животных в течение всего срока наблюдения зарегистрировано не было. Вследствие отсутствия гибели и видимых признаков значительной интоксикации проведение дальнейшего исследования с более низким уровнем дозы является необоснованным.

По истечению срока наблюдения животных умерщвляли путём декапитации под лёгким эфирным наркозом и подвергали макроскопическому обследованию. Общая картина при исследовании внутренних органов независимо от вида животных была сходной. Макроскопическое обследование печени, лёгких и головного мозга не выявило каких-либо отличий от контроля. Селезёнка нормального размера и формы. Почки нормального размера и окраски, с чётко различимой корковым и мозговым веществом, сосуды полнокровные. Кровоизлияний внутренних органов не выявлено.

Анализ полученных результатов показал, что по параметру DL50 испытуемая субстанция при остром внутрижелудочном пути поступления характеризуется как вещество, имеющее низкую опасность острой токсичности, и относится к V классу опасности (DL50 > 2000 мг/кг). Величины среднесмертельных доз (DL50) независимо от вида и пола животных определялись как > 2000 мг/кг, что свидетельствовало об отсутствии различий в видовой и половой чувствительности животных.

Результаты функционального нарушения состояния кожи при однократном воздействии концентрата наноструктур на основе диоксида кремния представлены в таблице.

Следует отметить, что изменения цвета кожи на всех сроках наблюдения не прослеживалось. Увеличение толщины кожной складки не превышало 0,3 мм. Через 16 часов после окончания экспозиции отёчность исчезала. Развитие отёка кожи не выходило за пределы 1 балла, что свидетельствовало о слабом раздражающем действии субстанции на кожу белых крыс.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Оценка безопасности новых наноструктурированных препаратов и субстанций требует пристального внимания как со стороны их производителей в процессе синтеза и использования в технологическом цикле, так и со стороны медицинского персонала, обследующего лиц, контактирующих с данными веществами. Причём изучение токсических свойств нанопрепаратов следует проводить в период, предшествующий их использованию, что позволит не допускать в производство нанопрепараты, с неблагоприятным воздействием на организм. Исследуемый концентрат наноструктур на основе диоксида кремния содержит как отдельные наночастицы размером 1 мкм, так и агломераты от 1 до 45 мкм. Данный концентрат является перспективной добавкой для повышения прочностных свойств строительных материалов. Методами классической токсикологии установлено, что концентрат наноструктур на основе диоксида кремния при остром внутрижелудочном пути поступления характеризуется как вещество, имеющее низкую опасность острой токсичности и относится к V классу опасности (DL50 > 2000 мг/кг, отсутствует половая и видовая чувствительность. При однократном нанесении на кожные покровы отмечено слабо выраженное раздражающее действие, которое полностью исчезает через 16 часов после окончания воздействия.

Статья подготовлена с использованием результатов работ, выполненных в ходе проекта 02.G25.31.0174 «Разработка комплексной ресурсоберегающей технологии и организация высокотех-

нологического производства наноструктур на основе углерода и диоксида кремния для улучшения свойств строительных и конструкционных материалов» в рамках Программы реализации комплексных проектов по созданию высокотехнологического производства, утвержденных постановлением Правительства РФ № 218 от 9 апреля 2010 г.

Авторы данной статьи сообщают об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА REFERENCES

1. Кондратьев В.В., Карлина А.И., Немаров А.А., Иванов Н.Н. Результаты теоретических и практических исследований флотации наноразмерных кремнийсодержащих структур // Журнал Сибирского федерального университета. Серия: Техника и технологии. – 2016. – Т. 9, № 5. – С. 657–670.

Kondratyev VV, Karlina AI, Nemarov AA, Ivanov NN. (2016). The results of theoretical and practical studies of flotation of nanoscale siliceous structures [Rezultaty teoreticheskikh i prakticheskikh issledovaniy flotatsii nanorazmernykh kremniysoderzhashchikh struktur]. Zhurnal Sibirskogo federal'nogo universiteta. Seriya: Tekhnika i tekhnologii, (5), 657-670.

2. Кондратьев В.В., Захаров С.В., Ермолович Е.В., Карлина А.И. Анализ безопасности вторичного использования отработанных футеровочных материалов алюминиевых электролизеров // Металлург. – 2016. – № 60. – С. 9–10.

Kondratyev VV, Zakharov SV, Ermolovich EV, Karlina AI. (2016). Safety analysis of secondary use of spent lining materials of aluminum cells [Analiz bezopasnosti vtornichnogo ispol'zovaniya otrabotannykh fut-

erovochnykh materialov alyuminiyevykh elektrolizerov]. Metallurg, (60), 9-10.

3. Методы испытания по воздействию химической продукции на организм человека. Острая пероральная токсичность - метод определения класса острой токсичности. ГОСТ 32644-2014. – М., 2014. – Режим доступа: <http://standartgost.ru>.

OECD guideline for testing of chemicals. Acute Oral Toxicity – Acute Toxic Class Method. (2014). GOST 32644-2014. [Metody ispytaniya po vozdeystviyu khimicheskoy produktsii na organizm cheloveka. Ostraya peroral'naya toksichnost' - metod opredeleniya klassa ostroy toksichnosti. GOST 32644-2014]. Moskva. Available at <http://standartgost.ru/>

4. Оценка воздействия вредных химических соединений на кожные покровы и обоснование предельно допустимых уровней загрязнений кожи. МУ № 2102-79. – М., 1980. – 24 с.

Assessment of the impact of harmful chemicals on the skin and substantiation of maximum permissible levels of contamination of the skin. (1980). Study guide N 2102-79. [Otsenka vozdeystviya vrednykh khimicheskikh soedineniy na kozhnye pokrovy i obosnovanie predel'no dopustimykh urovney zagryazneniy kozhi. Metodicheskie ukazaniya № 2102-79]. Moskva, 24 p.

5. Титов Е.А., Новиков М.А. Экспрессия bcl-2 как критериальный показатель воздействия нанобиокomпозитов // Токсикологический вестник. – 2014. – № 4. – С. 34–38.

Titov EA, Novikov MA (2014). Bcl-2 expression as criteria indicator of exposure to nanobiocomposites [Ekspressiya bcl-2 kak kriterial'nyy pokazatel' vozdeystviya nanobiokompozitov]. Toksikologicheskiiy vestnik, (4), 30-34.

Сведения об авторах Information about the authors

Соседова Лариса Михайловна – доктор медицинских наук, профессор, ведущий научный сотрудник лаборатории биомоделирования и трансляционной медицины ФГБНУ «Восточно-Сибирский институт медико-экологических исследований» (665827, г. Ангарск, а/я 1170; тел. (3955) 55-40-79; e-mail: sosedlar@mail.ru)

Sosedova Larisa Michailovna – Doctor of Medical Sciences, Professor, Leading Research Officer at the Laboratory of Biological Modeling and Translational Medicine of East-Siberian Institution of Medical and Ecological Research (665827, Angarsk, POB 1170, Russian Federation; tel. (3955) 55-40-89; e-mail sosedlar@mail.ru)

Вокина Вера Александровна – кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории биомоделирования и трансляционной медицины ФГБНУ «Восточно-Сибирский институт медико-экологических исследований» (e-mail: vokina.vera@gmail.com)

Vokina Vera Alexandrovna – Candidate of Biological Sciences, Research Officer at the Laboratory of Biological Modeling and Translational Medicine of the East-Siberian Institution of Medical and Ecological Research (e-mail: vokina.vera@gmail.com)

Кондратьев Виктор Викторович – кандидат технических наук, начальник инновационно-технологического центра физико-технического института ФГБОУ ВО «Иркутский национальный исследовательский технический университет» (664074, г. Иркутск, ул. Лермонтова, 83; e-mail: kvv@istu.edu)

Kondratiev Viktor Viktorovich – Candidate of Technical Sciences, Head of the Department of Innovative Technologies of Physical-Technical Institute of Irkutsk National Research Technical University (664074, Irkutsk, ul. Lermontova, 83; e-mail: kvv@istu.edu)

Ермолович Екатерина Викторовна – аспирант ФГБОУ ВО «Иркутского национального исследовательского технического университета» (e-mail: ermolovic1988@yandex.ru)

Yermolovich Ekaterina Viktorovna – Postgraduate at Irkutsk National Research Technical University (e-mail: ermolovic1988@yandex.ru)

Березин Алексей Анатольевич – магистрант кафедры органической химии и пищевой технологии им. проф. В.В. Тутуриной ФГБОУ ВО «Иркутский национальный исследовательский технический университет»

Berezin Aleksey Anatolyevich – Graduate Student at the Department of Organic Chemistry and Food Technology of Irkutsk National Research Technical University